

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Kristýna Panušková

Reflexní měření termální hyperalgie u modelu neuropatické bolesti
Reflexive measurement of thermal hyperalgesia in neuropathic pain model

Bakalářská práce

Školitel: doc. MVDr. Šimon Vaculín, Ph.D.

Praha, 2019

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 8. 5. 2019

Podpis

Poděkování

Ráda bych poděkovala doc. MVDr. Šimonu Vaculínovi, Ph.D za vstřícnost, cenné rady a připomínky, které mi pomohly při zpracování bakalářské práce.

Abstrakt

Neuropatická bolest podstatně snižuje kvalitu života a dosud nebyla pro její potlačení vyvinuta účinná léčba. Proto bylo pro výzkum neuropatické bolesti navrženo mnoho animálních modelů. Jedním z nejčastěji používaných modelů pro vyvolání periferní neuropatické bolesti u zvířat je chronická konstriktce sedacího nervu. Experimentální vyvolání neuropatické bolesti u potkanů se ověřuje pomocí reflexního měření prahu bolesti. Totéž měření lze také využít pro testování účinnosti experimentální léčby. Reflexních testů existuje celá škála, liší se v modalitě typu použitých stimulů a v místech stimulace. Tato práce je zaměřená na analýzu reflexního měření prahu bolesti při termální stimulaci u potkanů na plantárním povrchu zadních končetin po chronické konstriktce sedacího nervu. K analýze byly vyhledány články v elektronické databázi PUBMED/MEDLINE pro výrazy chronic constriction injury a pain threshold za posledních 10 let. Články, ve kterých byl měřen termální práh bolesti u potkanů s CCI, byly seřazeny podle prestižnosti časopisů a vybrány byly články z časopisů z prvního kvartilu. Z těchto článků byly extrahovány hodnoty prahu bolesti, použité testy, časový interval od operace, měření před operací a typ použité kontroly při studii. Ukázalo se, že metodika není jednotná. Nejčastěji používaným testem je Hargreavesův test, umožňující měřit každou končetinu samostatně. Běžná hodnota prahu bolesti měřeného pomocí Hargreavesova testu se pohybuje nejčastěji mezi 10 až 13,5 sekundami, týden po operaci klesá přibližně na 50 %. Druhý až třetí týden se začíná práh bolesti postupně zvyšovat. Sham operovaná zvířata jsou nejpoužívanějšími kontrolami při studiích. Na závěr byl vytvořen přehled/doporučení postupů měření.

Klíčová slova:

plantar test, hot plate test, cold plate test, chronická konstriktce sedacího nervu

Abstract

Neuropathic pain substantially decreases a person's quality of life and thus far nothing has been invented that can alleviate that pain. One of the most commonly used model for induced peripheral neuropathic pain in animals is chronic constriction of the sciatic nerve. Experimental induction of neuropathic pain in rats is verified by reflexive measurement. Reflexive measuring can also be used to test the efficacy of the experimental treatment. The large range of reflexive tests that can be applied differ in terms of the stimulus used and the area of stimulation. This bachelor thesis will focus on analyses of the thermal pain threshold after a chronic constriction injury (CCI) to the sciatic nerve. Articles used in this thesis were found in the electronic database PUBMED/MEDLINE by searching for the terms "chronic constriction injury" and "pain threshold" for last 10 years. Articles related to the thermal pain threshold of rats after CCI were ranked according to the prestige of magazine that published them and ten articles with a quartile of 1 were selected for further analyses. The tests used, control methods during the study, measuring interval, measurement before operation and pain threshold values were extracted from these articles. Measurement of behavioral signs is not unified. The Hargreaves test which allows measurement of each limb individually is the most commonly used test. The average value of the pain threshold found using the Hargreaves test is 10 to 13,5 seconds and a week after the operation this value typically drops by about 50%. In the second and third week the pain threshold increases. Sham operated animals are the most common method of control in these studies. Finally was created guidelines of measurement procedures.

Keywords:

plantar test, hot plate test, cold plate test, chronic constriction injury

Obsah

1	Úvod	8
2	Bolest	9
2.1	Definice bolesti	9
2.2	Typy bolesti.....	9
2.2.1	Nociceptivní bolest	9
2.2.2	Neuropatická bolest	10
3	Modely neuropatické bolesti	10
3.1	Modely centrální bolesti.....	11
3.1.1	Kontuzní model.....	11
3.1.2	Fotochemické SCI.....	11
3.1.3	Excitotoxické SCI.....	11
3.1.4	Páteřní hemisekce	11
3.2	Modely periferní bolesti	12
3.2.1	Axotomický model	12
3.2.2	Chronická konstrikce sedacího nervu (CCI).....	12
3.2.3	Částečná ligace sedacího nervu (PSL).....	13
3.2.4	Ligace spinálních nervů (SNL).....	13
3.2.5	Model ischiadické kryoneurolyzy (SCN)	14
3.2.6	Periferní diabetická neuropatie (PDN)	14
3.2.7	Neuropatie vyvolaná chemoterapeutiky	14
4	Reflexní měření u modelu neuropatické bolesti	15
4.1	Práh bolesti.....	15
4.2	Metody měření prahu bolesti	15
4.2.1	Testy využívající mechanické stimuly.....	15
4.2.2	Testy využívající tepelné stimuly	17

5	Analýza měření prahu bolesti	20
5.1	Metodika získávání dat	20
5.2	Výsledky a diskuze	20
5.2.1	Testy.....	21
5.2.2	Kontroly	21
5.2.3	Hodnoty prahu bolesti.....	22
5.2.4	Shrnutí.....	23
6	Závěr	25
	Seznam použité literatury	26

1 Úvod

Bolest tvoří nedílnou součást života lidí i zvířat. Přestože v minulosti byla bolest u zvířat přehlížena, dnes věnujeme velkou pozornost, ať už veterinární medicíně nebo výzkumu bolesti. Normální bolest má za úkol varovat a chránit organismus před případným poškozením tkáně. Na rozdíl od normální, nocicepční bolesti, neuropatická bolest již ztrácí ochrannou funkci a je tak často označována jako bolest bezúčelná. V tento moment již bolest není považována za symptom, ale stává se syndromem, vlastní nemocí. Neuropatická bolest je pro pacienty velmi omezující, navíc farmakoterapie neuropatické bolesti má omezený úspěch. Také proto je nutné neuropatickou bolest zkoumat.

Pochopení mechanismů bolesti nám umožňuje vyvíjet nové možnosti léčby vedoucí k jejímu potlačení. Abychom mohli bolest zkoumat, je potřeba ji modelovat. Zvířata jsou používána pro modelování určitého lidského patologického stavu. Použití zvířat umožňuje manipulaci s experimentálními proměnnými, které mohou vést k porozumění mechanismů bolesti a k pozdějšímu rozvoji analgetických terapií. Mezi nejčastěji používané animální modely periferní neuropatické bolesti patří chronická konstrikce sedacího nervu (CCI). Rozvoj neuropatické bolesti lze u zvířat hodnotit preferenčními metodami či reflexním měřením. Při reflexním měření se tlapka/y stimulují nejčastěji tepelným nebo mechanickým podnětem a měří se latence nebo intenzita stimulu potřebná pro zahájení únikové (flexorový obranný reflex) či jiné obranné reakce.

V první části práce jsou popsány různé podoby bolesti. Dále se práce zaměřuje na neuropatickou bolest a její modelování u zvířat. Poslední část je věnována jednotlivým testům a metodice měření prahu bolesti.

V druhé části je provedena analýza článků používajících k modelaci neuropatické bolesti CCI a k měření prahu termální stimulaci. Práce je zaměřena na analýzu naměřených hodnot termálního prahu bolesti u potkanů, časového intervalu měření, analýzu používaných testů a kontrol ve člancích prestižních časopisů.

2 Bolest

2.1 Definice bolesti

Definovat bolest není snadné, proto existuje více definic bolesti. Nejdříve se uznávala definice Charlese Scotta Sherringtona. Definoval bolest jako „psychický doprovod imperativní obranného reflexu“ (Sherrington, 1910, cit. podle Neradílek, 2012). Nedostatkem této definice je fakt, že ne každá bolest má obrannou funkci. Proto později byla bolest definována Mezinárodní společností pro studium bolesti jako „nepříjemná senzorická a emocionální zkušenost spojená s akutním nebo potenciálním poškozením tkání nebo je popisovaná výrazy takového poškození“ (IASP, 1994). Avšak u zvířat tato definice ztrácí smysl díky absenci verbální komunikace. Z tohoto důvodu je vhodnější u zvířat používat definici Ralpha L. Kitchella, který definuje bolest jako „nepříjemnou senzorickou a emocionální zkušenost, která vyvolává obranné reflexy, podmiňuje únikovou reakci, a která může ovlivnit druhově specifické rysy chování, např. sociální chování“ (Kitchell, 1987, cit. podle Franěk a Vaculín, 2012).

2.2 Typy bolesti

2.2.1 Nociceptivní bolest

Mechanickým, termickým či chemickým drážděním adekvátních nervových zakončení aferentních nervových vláken, označovaných jako nocisenzory, vzniká bolest nociceptivní. Tu lze dělit na somatickou a viscerální, mezi nimiž jsou značné rozdíly v neurobiologických mechanismech, vnímání apod. (Kozák, 2013). Somatická hluboká bolest je vyvolána při poranění kloubů, kostí či svalů, zatímco povrchová bolest vzniká drážděním na kůži. Naproti tomu viscerální bolest vzniká podrážděním nociceptorů útrobních orgánů. Viscerální bolest je charakteristická tím, že nevzniká ve všech vnitřních orgánech, např. parenchym jater a ledvin (na rozdíl od jejich obalu) není citlivý na bolest; nemusí být vždy spojena s viscerálním zraněním; je difuzní, tzn. hůře se lokalizuje; může být přenesena na jiné místo a vnímána jako bolest somatická; může být spojena s motorickými a autonomními reflexy, např.: zvracení, nevolnost (Cervero a Laird, 1999).

Podle délky trvání se nociceptivní bolest dělí na akutní a chronickou. Akutní bolest trvá několik hodin či dnů, zatímco chronická bolest neodeznívá tak rychle. Její trvání se může pohybovat v řádu měsíců až let. Akutní bolest má pro organismus pozitivní význam, jelikož varuje organismus o probíhajícím nebo hrozícím tkáňovém poškození a tím jej chrání před dalším zraněním (Ševčík, Čumlivski a Málek, 2012). Pokud se ale nezačne včas léčit nebo příčina bolesti přetrvává, může přejít v bolest neuropatickou, která nejen že déle trvá, ale často se progresivně zhoršuje – může bolet i bez příčiny a analgetika (léky tlumící bolest) ji nedokáží vždy potlačit (Opavský, 2006).

2.2.2 Neuropatická bolest

Neuropatická bolest je způsobená lézí nebo onemocněním somatosenzorického nervového systému (IASP, 1994). Je to patologická bolest, u níž není potřeba stimulace receptorů bolesti a nemá informativní charakter jako bolest nociceptivní. Podle lokalizace poškození rozlišujeme neuropatickou bolest na periferní a centrální (Ambler, 2012). Dále můžeme rozdělit neuropatickou bolest na evokovanou a spontánní (na stimulech nezávislou). Spontánní bolest může být přerušovaná či nepřetržitá, avšak může se měnit její intenzita. U evokované bolesti rozlišujeme alodynii a hyperalgezii (Opavský, 2006). Jako alodynii se označuje bolest vyvolaná podnětem, který bolest normálně nevyvolává. Hyperalgezii definujeme jako zvýšenou, více bolestivou odpověď na podnět, který bolest normálně vyvolává (IASP, 1994). Spontánní bolest se u animálních modelů měří nepřímou, zatímco evokovanou bolest lze měřit preferenčními metodami či metodami založenými na obranném reflexu.

3 Modely neuropatické bolesti

Animální modely neuropatické bolesti umožňují její zkoumání a pochopení mechanismů, které mohou přinášet nové léčebné postupy. Lze je dělit podle místa zásahu v nervovém systému na centrální a periferní, dále podle způsobu vyvolání léze na chirurgické poranění nervu podvazem či přetětím, neuropatii vyvolanou chemoterapeutiky nebo ischemicky a diabetickou neuropatii (Franěk a Vaculín, 2012).

3.1 Modely centrální bolesti

3.1.1 Kontuzní model

Nejstarší model bolesti byl zaveden Alfredem R. Allenem. Laminektomií se odhalí dolní třetina hrudní oblasti. K experimentálnímu míšnímu poranění (SCI) se používá závaží o určitých hmotnostech (Allen, 1911). Tento model se v různých modifikacích používá dodnes. Jedno zařízení je založeno na pouštění deseti gramové kovové tyčinky z různých výšek na odhalenou oblast míchy, spadnutí tyčinky z větší výšky vyvolá rozsáhlejší míšní poškození (Basso, Beattie a Bresnahan, 1996). Již první den po poranění dochází k rychlému rozvoji alodynie (Drew, Siddall a Duggan, 2001).

3.1.2 Fotochemické SCI

Fotochemické poranění míchy reprezentuje model poranění ischemického původu. Intravenózně se aplikuje fotosenzitivní barvivo, např. erythrosin B. Po řezu kůží a odhalení daného místa se mícha osvítlí argonovým iontovým laserem. Výsledkem je intenzivní agregace trombocytů, která vede k okluzi cév a k následnému poškození tkáně. Během několika dnů po ozařování laserem zvířata vykazují bolestivou reakci (vokalizaci) i při malé mechanické stimulaci. Vedle mechanické alodynie se rozvíjí automutilace a hyperalgezie (Xu et al., 1992).

3.1.3 Excitotoxické SCI

Dalším modelem míšního poškození je aplikace intraspinální injekce kyseliny quisqualové (agonista AMPA glutamátových receptorů), která modeluje poranění indukované zvýšením excitačních aminokyselin. Injekce se podávají v rozmezí od desátého hrudního do čtvrtého bederního obratle v hloubce 300 až 1 200 μm pod míšním povrchem. Excitotoxické poškození způsobené aplikací kyseliny quisqualové vede k degeneraci neuronů ve specifických oblastech šedé hmoty. Rozvíjí se spontánní bolest, mechanická alodynie a termální hyperalgezie (Yeziarski et al., 1998).

3.1.4 Páteřní hemisekce

Laminektomií se odhalí mícha a její polovina se transversálně přetne v oblasti Th13 (Christensen et al., 1996). Tento model poskytuje možnost volby typů a množství

poraněných vláken. Další výhoda spočívá v oddělenosti zraněných a intaktních stran (Jaggi, Jain a Singh, 2011). Na končetinách a na ocasu se rozvíjí chladová a mechanická alodynies (Kim et al., 2003). Alodynies přetrvává až 160 dní po provedení hemisekce (Christensen et al., 1996).

3.2 Modely periferní bolesti

3.2.1 Axotomický model

Patrick David Wall zavedl nejstarší model periferní neuropatické bolesti u zvířat, který je založen na kompletní transekcii (viz obr. 1) ischiadického nervu (Wall et al., 1979). Axotomický model modeluje fantomovou bolest vyskytující se u lidí např. po amputaci končetiny (Franěk a Vaculín, 2012). U potkana je končetina necitlivá a předpokládá se, že spontánní bolest má za následek automutilaci (olizování, kousání, škrábání končetiny). Nicméně, díky vysokému rozvoji automutilace, obtížné kvantifikaci a vysokému utrpení zvířat se tento model používá jen zřídka (Jaggi, Jain a Singh, 2011).

3.2.2 Chronická konstriktce sedacího nervu (CCI)

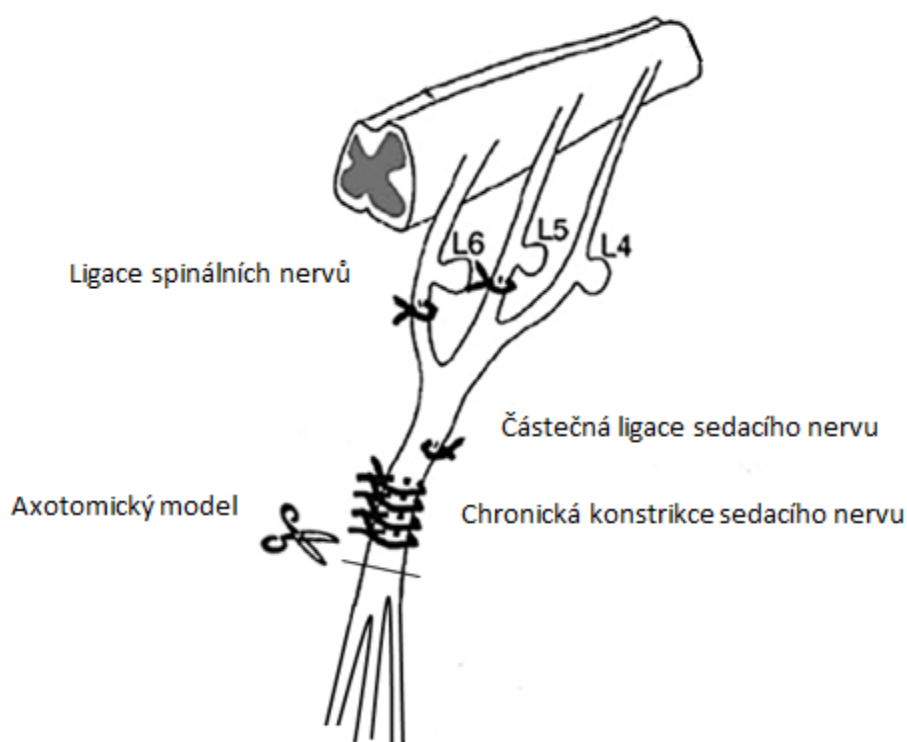
Tento model indukující mononeuropatii je nejčastěji používaným modelem periferní neuropatické bolesti u zvířat. Proveďte se řez kůží a svaly (m. gluteus superficialis a m. biceps femoris). Levý sedací nerv je exponován a podvázán čtyřmi volnými ligaturami chromovým catgutem velikosti 4-0 vzdálenými 1 mm (viz obr. 1). Stejná operace se provede na druhé zadní končetině (nebo u kontrolní skupiny), ale sedací nerv není ligován, tzv. sham operace sloužící jako kontrola. Pooperační chování indukuje hyperalgezii, alodynii a spontánní bolest přetrvávající přibližně 2 měsíce (Bennett a Xie, 1988). Napětí ligatur kolem ischiatického nervu se může lišit a způsobovat tak variabilitu v počtu poškozených vláken, což je nevýhodou tohoto modelu (Ro a Jacobs, 1993). Chronická konstriktce sedacího nervu se používá jako model komplexního regionálního bolestivého syndromu 2. typu (Bennett a Xie, 1988). Jako model trigeminální bolesti slouží CCI infraorbitálního nervu (Vos, Strassman a Maciewicz, 1994).

3.2.3 Částečná ligace sedacího nervu (PSL)

Podobně jako předchozí model je i tento založen na ligaci sedacího nervu. U modelu PSL je 1/3 až 1/2 nervu podvázána pouze jednou a silně (viz obr. 1). Podvaz vyvolává okamžitý nástup spontánní bolesti, alodynie a hyperalgezie, které jsou přítomny po dobu až sedmi měsíců. Též slouží jako model komplexního regionálního bolestivého syndromu 2. typu (Seltzer, Dubner a Shir, 1990).

3.2.4 Ligace spinálních nervů (SNL)

U potkanů se provede podvaz dvou míšních nervů L5 a L6 těsnou ligací (viz obr. 1). Rozvíjí se hyperalgezie a alodynie dohromady se spontánní bolestí přetrvávající několik týdnů. SNL modeluje komplexní regionální bolestivý syndrom 2. typu. Jelikož je mechanická alodynie i další bolestivé projevy zmírňovány sympatektomií, používá se SNL také jako model bolesti závislé na sympatiku (Kim a Chung, 1991). Tento model přináší dvě výhody: chirurgický postup je neměnný, zraněné a intaktní míšní segmenty zůstávají odděleny (Kim a Chung, 1992).



Obrázek 1 - Schéma experimentálních modelů periferní neuropatické bolesti. Převzato a upraveno podle Ueda, 2005.

3.2.5 Model ischiadické kryoneurolýzy (SCN)

Ischiadická kryoneurolýza představuje animální model periferní mononeuropatie vzniklé zmrazením nervu. Poranění ischiadického nervu se způsobí zmrazením pomocí oxidu dusného na -60 °C. Vzniklé příznaky jako spontánní bolest, automutilace a mechanická alodynies přetrvávají necelý měsíc. Používá se též jako model bolesti nezávislé na sympatiku (Deleo et al., 1994).

3.2.6 Periferní diabetická neuropatie (PDN)

Nejčastěji používaným modelem pro diabetickou neuropatii je aplikace streptozotocinu anebo alloxanu (Jaggi, Jain a Singh, 2011). Do týdne po podání streptozotocinu (nebo alloxanu), který způsobí zničení pankreatických ostrůvků, dochází k rozvoji hyperglykémie. Později lze u modelových zvířat pozorovat automutilaci, rozvoj hyperalgie a alodynies (Courteix, Eschalier a Lavarenne, 1993; Damasceno et al., 2014).

3.2.7 Neuropatie vyvolaná chemoterapeutiky

3.2.7.1 Vincristin

Vincristin je alkaloid izolovaný z rostliny *Catharanthus roseus*, slouží jako účinné chemoterapeutikum používané pro léčbu různých neoplastických onemocnění (Chu et al., 1996). Jeho užívání má neurotoxické účinky a vede k poškození periferních nervů (způsobuje polyneuropatie a bolestivé parestézie). Podávání vyšších dávek způsobí nežádoucí změny motorické funkce a dochází ke zvýšení mortality (Aley, Reichling a Levine, 1996; Tanner, Levine a Topp, 1998).

3.2.7.2 Paclitaxel

Chemoterapeutikum využívané při léčbě rakoviny prsu, vaječníků, plic atd. (Scripture, Figg a Sparreboom, 2005). Na rozdíl od vincristinu není tak toxický a neovlivňuje motorickou funkci. Stejně jako vincristin indukuje vznik přecitlivělosti na mechanické, termální a chladové stimuly (Polomano et al., 2001).

4 Reflexní měření u modelu neuropatické bolesti

4.1 Práh bolesti

Práh bolesti definujeme jako minimální intenzitu stimulu, která je už vnímána jako bolestivá (IASP, 1994). Ačkoli je nocicepce s bolestí úzce spojena, je důležité tyto pojmy odlišovat. Nocicepce zahrnuje mechanismy, kterými jsou škodlivé podněty detekovány a přenášeny nervovým systémem. Nocicepce může být odpovědná za zahájení reflexní obranné reakce, ale nemusí být vždy spojena s pocitem bolesti (IASP, 1994). Pro verbální neschopnost zvířat sdělit bolest, je nutné brát v úvahu, že bolest u zvířat lze pouze hodnotit z chování podobnému bolesti (Sandkühler, 2009).

4.2 Metody měření prahu bolesti

Nociceptivní testy používají nejčastěji tepelné a mechanické stimuly. Jakmile dojde k překročení prahu bolesti, organismus zahajuje obranné reakce. Odpověď na bolestivý stimul můžeme hodnotit měřením únikové reakce. Měříme buď dobu, nebo intenzitu stimulu potřebnou k zahájení únikové reakce. Pokud bolest přetrvává, lze pozorovat komplexnější chování. Jestliže není pozorována obranná reakce do stanoveného limitu (tzv. cut-off hladina stimulace), zvíře musí být odebráno, aby se zabránilo poškození tkáně (Le Bars, 2001)

4.2.1 Testy využívající mechanické stimuly

4.2.1.1 Test von Freyovými vlákny

Test von Freyovými vlákny je založen na aplikaci nylonových vláken (viz obr. 2A) o délce 5 cm a různých průměrů. Vlákna jsou upevněna na aplikátorech a jejich konec má tupé zakončení. Síla vznikající při ohybu vláken se pohybuje v rozmezí

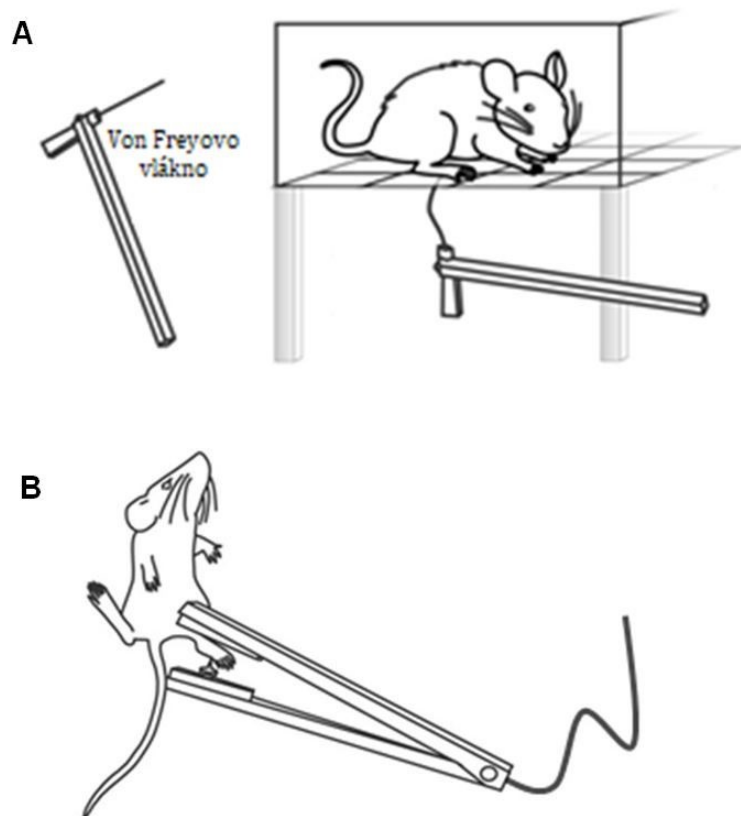
od 0,008 N do 300 N (Barrot, 2012). Von Freyova vlákna se aplikují nejčastěji kolmo k plantárnímu či dorzálnímu povrchu končetiny. Test von Freyovými vlákny má dvě běžně používané metody: metoda vzestupného stimulu a metoda procentuální odezvy. V prvním případě se hledá vlákno o tloušťce vyvolávající obrannou reakci (tzv. prahové vlákno), pokud zvolené testované vlákno nevyvolá odezvu, použije se vlákno s větší silou. V metodě procentuální odezvy se několik vláken von Frey (většinou 4 až 6) o různých průměrech aplikuje ve vzestupném pořadí. Počet reakcí na každé vlákno se vyjádří jako procento frekvence odezvy (Kim a Chung, 1992). Nevýhoda spočívá v možnosti rozvoje senzibilizace po opakovaném měření (Deuis, Dvořáková a Vetter, 2017).

Manuální test von Freyovými vlákny může podávat variabilní výsledky. Pokud je udržován tlak vlákna po delší dobu, latence obranné reakce se zkracují. Také značka vláken a stupeň ohýbání může ovlivňovat výsledky (Barrot, 2012).

Modifikací je elektrický test von Frey s použitím jediného vlákna. Princip spočívá v manuální aplikaci vlákna s postupně zvyšující se silou. Přístroj umožňuje on-line zobrazení použité síly, při které byla obranná reakce zahájena (Ängeby Moller, Johansson a Berge, 1998).

4.2.1.2 Randall-Selitto test

V původní verzi tohoto testu (Randall a Selitto, 1945) se zadní tlapka stimuluje tupým hrotem. Tlak je obvykle zajištěn lištou s posuvným závažím. Zvíře musí být zadržováno ve vertikální nepřírozané poloze pro udržení tlapky na rovném povrchu. Z tohoto důvodu jsou nutné zkušenosti výzkumníka, jelikož zvíře musí být přetrénované (habituované), aby nedocházelo k ovlivnění prahů bolesti kvůli stresu zvířete (Barrot, 2012). Díky této nevýhodě se vyvinula nová metoda měření mechanického prahu bolesti pomocí kalibrovaných kleští (viz obr. 2B) s elektronickým záznamem, zvíře je v tomto případě vystaveno minimálnímu stresu (Barrot, 2012; Luis Delgado et al., 2006).



Obrázek 2 - Mechanické testy prahu bolesti. A – manuální test von Freyovými vlákny. Používají se filamenta o různých silách a pozoruje se případná nociceptivní odpověď. B – Modifikovaný Randall-Selitto test. Tlapka je umístěna mezi kleštěmi a síla, při které byla vyvolána obranná reakce, se zaznamená přístrojem. Převzato a upraveno podle Deuis, Dvořáková a Vetter, 2012.

4.2.2 Testy využívající tepelné stimuly

4.2.2.1 Tail flick test

Tail flick test může být použitý ve dvou různých variantách. V první variantě působí na povrch ocasu sálavé teplo (viz obr. 3A) (D'Amour a Smith, 1941). Zvíře je fixováno v testovací komůrce, a jakmile švihne ocasem, časovač se zastaví a zaznamenaný čas je měřítkem prahu bolesti (Bass a Sander Brook, 1952). Druhá varianta s rozsáhlejší stimulační oblastí je založena na ponoření distálního konce ocasu do ohřáté vody o teplotě mezi 46 až 52 °C (Deuis, Dvořáková a Vetter, 2017). Pro nociceptivní testování chladovým stimulem se zavedla metoda měření chladového tail flick testu, při kterém je ocas zvířete ponořen do studené vody s teplotou -10 °C (Pizziketti et al., 1985).

Úniková obranná reakce (švihnutí ocasem) je míšní reflex se supraspinální modulací (Mitchell a Hellon, 1997). Latenci ovlivňuje místo stimulace. Při stimulaci v distální části ocasu, je reakční čas kratší, než při stimulaci v proximální části. Překvapující je, že i když dráha pro aferentní signály je delší, reakční čas je kratší. Tento jev se odůvodňuje tenčí kůží na špičce ocasu (Ness, Jones a Gebhard, 1987). Dále reakční dobu ovlivňuje i teplota okolí. Latence se zkracují při vyšší okolní teplotě a při vyšší teplotě pokožky ocasu (Berge, Garcia Cabrera a Hole, 1988). Test švihnutí ocasem lze opakovat i několikrát po sobě, protože u hlodavců nedochází k habituaci (Franěk a Vaculín, 2012).

4.2.2.2 Hot plate test

Hot plate test stimuluje současně všechny čtyři končetiny i ocas zvíře. Zvíře se umístí na kovovou desku, která je buď ohřátá na konstantní teplotu 50-55 °C (viz obr. 3B) (Woolfe a Macdonald, 1944), anebo se pozvolna zahřívá, tzv. dynamický hot plate test. V tomto případě se deska předeřeje na 42 či 43 °C a teplota se postupně zvyšuje do té doby, než je pozorováno příslušné chování, jako je olizování končetin, poskakování apod. (Ögren a Berge, 1984; Tjolsen et al., 1991).

Projevy bolesti, olizování a pokusy o útěk z prostředí (skákáání), jsou zprostředkovány supraspinálními mechanismy (Giglio et al., 2006).

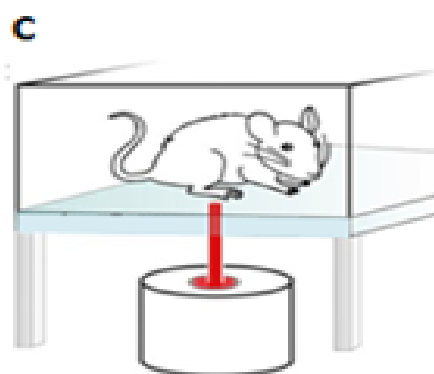
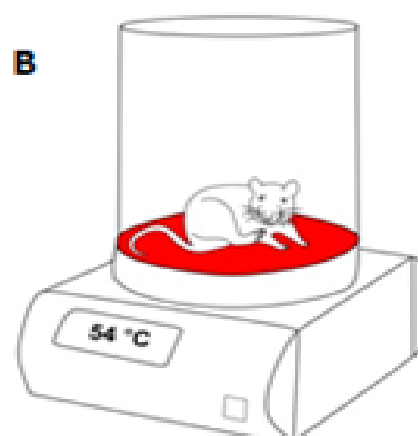
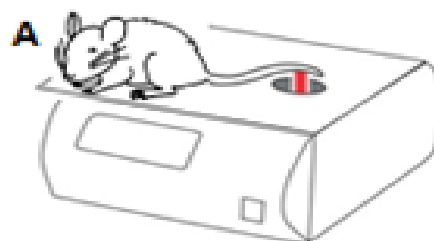
Oproti tail flick testu při tomto testu může docházet ke zkracování latencí, jelikož je tento test velmi náchylný k sensitizaci (Gamble a Milne, 1989).

Jeho modifikací se vyvinul **cold plate test**, při kterém zvíře reaguje na chladové stimuly. Deska bývá nejčastěji nastavena na 5 °C. Oproti jiným chladovým metodám má mnoho výhod, např. přesné nastavení teploty a možnost volného pohybu zvířete, což eliminuje případný stres (Jasmin et al., 1998).

4.2.2.3 Hargreavesův test

Zvíře je umístěno v plastovém boxu se skleněnou podlahou a má umožněný volný pohyb, tepelný stimul zde působí na plantární povrch jedné končetiny (viz obr. 3C) (Hargreaves et al., 1988). Začátek stimulace tepelným paprskem spouští časovač, po stažení končetiny se časovač zastaví a latence únikové reakce se automaticky zaznamená.

Oproti tail flick a hot plate testu zde není do měření zapojený ocas. Ocas je nejvýznamnějším orgánem termoregulace u potkanů a myši a nociceptivní odezva tím může být ovlivněna (Yeomans a Proudfit, 1994). Další výhodou je možnost testování každé tlapky zvlášť. Toho se využívá především při testování chronických modelů bolesti, kde kontralaterální končetina může sloužit jako kontrolní (Galbraith, Mrosko a Myers, 1993). Ve srovnání se zdravou končetinou bývají latence pro ipsilaterální končetinu kratší a práh bolesti je tedy snížen.



Obrázek 3 - Tepelné testy prahu bolesti.

A – tail flick test vyvolaný tepelným paprskem, zaznamenává se latence obranné reakce (švihnutí ocasem). B – hot plate test s konstantní teplotou, měří se čas potřebný k vyvolání bolestivých reakcí či tzv. nociceptní index (výpočet dle různých poloh a péče o končetinu). C – Hargreavesův test, zaznamenává se latence reflexní odpovědi končetiny. Převzato a upraveno podle Deuis, Dvořáková a Vetter, 2012.

4.2.2.4 Acetonový test

Při tomto testu se kapka acetonu aplikuje na plantární povrch chodidla, kde odpařování acetonu způsobí chladový stimul. Test se používá k průkazu chladové alodynie např. u modelu neuropatické bolesti. Výhodou acetonového testu je jednostranná aplikace (Choi et al., 1994).

5 Analýza měření prahu bolesti

5.1 Metodika získávání dat

Články pro studii byly získány z databáze PubMed/Medline. Do vyhledávání byly zadány vybrané výrazy: chronic constriction injury a pain threshold. Vyhledávání proběhlo od roku 2008 do listopadu 2018. Nejprve po přečtení abstraktů byly vyřazeny studie, které se zabývaly měřením mechanického prahu bolesti. Dále byly vyřazeny studie zaměřující se na chronickou konstrikci infraorbitálního nervu a studie, které proběhly na myších. Články splňující kritéria, tzn. články zabývající se měřením tepelného prahu bolesti po chronické konstrikci sedacího nervu u potkanů, byly seřazeny podle impact faktoru a kvartilů časopisů v oboru Anesthesiology. Do finální analýzy byly vybrány články z časopisů s Q1 z kategorie Anesthesiology. Ve fulltextech článků byly vyhledávány použité testy při měření termálního prahu bolesti, jeho hodnoty, časový interval od operace, měření před operací a typy použitých kontrol.

5.2 Výsledky a diskuze

Výsledkem počátečního vyhledávání v elektronické databázi od roku 2008 do listopadu 2018 bylo celkem 200 článků. Po přečtení abstraktů bylo vyloučeno 96 publikací. Vyřazené články se zabývaly pouze mechanickým nikoli termickým prahem bolesti, proto nebyly do této studie zařazeny. Ze zbylých 104 článků bylo druhou selekcí vyřazeno 13 článků, ve kterých byly provedeny pokusy na myších nikoli na potkanech nebo šlo o studie s chronickou konstrikcí infraorbitálního nervu. Další selekce proběhla podle prestižnosti časopisů a články byly seřazeny podle impact faktoru a kvartilů časopisů. Do finální analýzy bylo zařazeno 10 článků spadajících

do Q1 v oboru Anesthesiology. V Q1 v oboru Anesthesiology je celkem osm časopisů, avšak všechny studie splňující naše kritéria výběru byly otištěny pouze ve třech z těchto časopisů (Pain, Regional Anesthesia and Pain Medicine a Anesthesia and Analgesia).

5.2.1 Testy

Termální testy pro reflexní měření evokované bolesti se liší v oblasti stimulace. Tepelný stimul působí buďto pouze na vybranou končetinu (plantar test) či na všechny končetiny včetně ocasu zvířete (nociceptivní odpověď tím může být zkreslena) a ovlivňuje tedy jak intaktní, tak i podvázanou končetinu (hot a cold plate test).

Hargreavesův test oddálení končetiny na tepelnou stimulaci (plantar test) byl použit při reflexním měření v devíti z deseti studií. Test studené desky (cold plate test) použily dvě studie z deseti. A pouze jedna studie využila k reflexnímu měření test teplé desky (hot plate test). Dvě studie použily k měření více testů. Jedna z těchto studií měřila pomocí cold a hot plate testu, zatímco druhá studie použila Hargreavesův plantar test a cold plate test. Z toho vyplývá, že pouze jediná studie nepoužila k reflexnímu měření test podle Hargreavese.

Tyto výsledky potvrzují skutečnost, že na reflexní měření po chronické konstriktci sedacího nervu u potkanů je Hargreavesův test nejpoužívanější metodou. Jeho hlavní výhoda spočívá v možnosti měření termálních prahů ipsilaterální a kontralaterální končetiny zvlášť. Zatímco testy cold plate a hot plate nejsou pro reflexní měření u modelu neuropatie vyvolaného CCI vhodné, jelikož jsou při nich na desce pod vlivem tepelného stimulu všechny čtyři tlapky a ocas. Tím pádem tyto testy měří obě respektive všechny čtyři končetiny najednou. Devět z deseti studií tedy použilo vhodnou metodu pro měření. Pouze jedna studie měřila tepelný práh bolesti po CCI ne zcela patřičnou metodou.

5.2.2 Kontroly

Typ použité kontroly představuje další parametr, který může ovlivňovat naměřené hodnoty latencí. Při použití kontralaterální končetiny jako kontrolní, se může projevit míšní reflex (zkřížený extenzorový) ovlivňující rozdíl mezi latencemi podvázané a kontralaterální končetiny.

Devět z devíti studií, které měřily práh bolesti Hargreavesovým testem, porovnávalo ipsilaterální končetiny se sham operovanými zvířaty. Pouze jedna studie z devíti navíc použila pro srovnání kromě sham operovaných zvířat i hodnoty z reflexního měření kontralaterální končetiny. Před provedením operace změřilo práh bolesti osm z devíti studií.

5.2.3 Hodnoty prahu bolesti

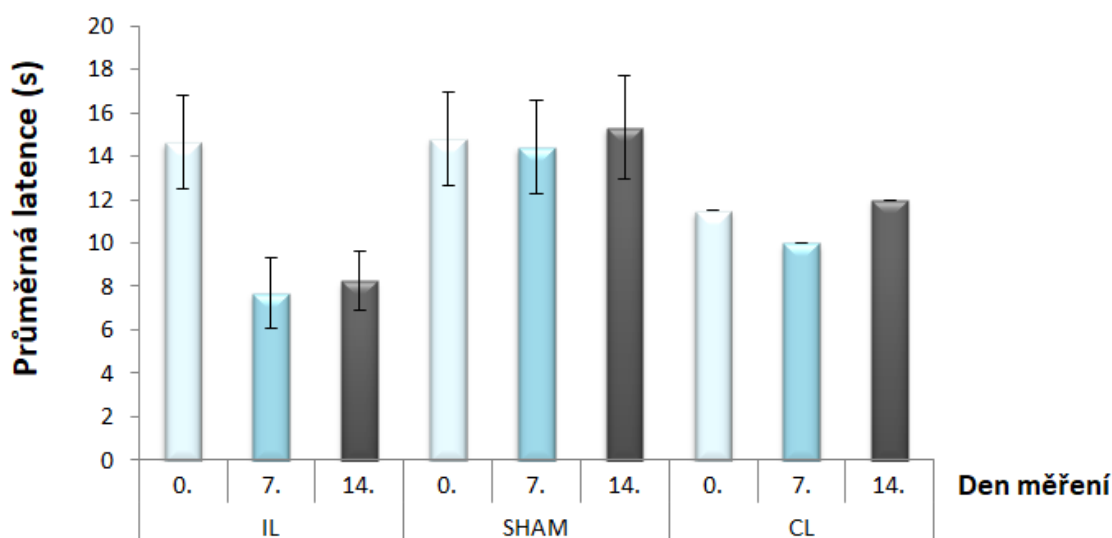
Hodnota latence závisí na intenzitě stimulace. Vysoká intenzita stimulace způsobí okamžitou reakci, což ztěžuje posouzení jejího zkrácení. Naopak při použití příliš malé intenzity, je latence dlouhá a zvyšuje se pravděpodobnost spontánního pohybu, navíc nemusí vést k odpovědi na intaktní končetině.

Pro posouzení hodnoty klidové latence měřené Hargreavesovým testem jsme zvolili latenci ipsilaterální končetiny před chronickou konstrikcí. Latence se v analyzovaných studiích pohybuje v rozmezí mezi 10ti až 30ti sekundami, průměrná hodnota je $14,7 \pm 2,2$ (standartní chyba průměru) sekund (viz graf 1) a medián je 12 sekund. V intervalu 10-13,5 sekund se pohybuje šest z osmi studií měřících práh bolesti i před operací.

Dalším důležitým parametrem je období měření po operaci. Měření první dny po operaci může být zavádějící, jelikož teprve dochází k rozvoji evokované neuropatické bolesti. Po té co neuropatická bolest dosahuje svého vrcholu, začíná postupně odeznívat a latence se tedy prodlužují. První den po chronické konstrikci měřilo práh bolesti šest z devíti studií. Druhý a čtvrtý den změřily latence reflexní odpovědi pouze tři studie, třetí den šest studií, pátý den měřilo pět studií a šestý den jen dvě studie. Všechny studie změřily práh bolesti sedmý den po operaci. Osmý až třináctý den po operaci byly změřeny latence jednou až třemi studiemi. Zatímco čtrnáctý den po operaci změřilo práh bolesti osm z devíti studií, tři týdny po operaci změřily tepelný práh bolesti jen čtyři studie. V delším časovém období se měřením zabývala už pouze jediná studie.

Největší změna v reflexní odpovědi se projeví cca týden po operaci. Sedmý den po provedení chronické konstrikce je rozptýl hodnot 4-18 sekund. Latence se snižuje průměrně na $7,7 \pm 1,6$ sekund (viz graf 1). Nejčastější latencí jsou 4 sekundy a medián je 5 sekund. Tyto hodnoty dokazují téměř poloviční snížení latence reflexní odpovědi,

kteřé svědčí o sníženém prahu bolesti způsobeným rozvojem neuropatické bolesti. 14. den je rozptyl hodnot 4-16 sekund, průměrná hodnota prahu bolesti je $8,3 \pm 1,4$ sekund (viz graf 1) a medián 6,5 sekund. Reflexní odpověď se začíná tedy mírně prodlužovat.



Graf 1 – Průměrné hodnoty latencí měřené před CCI, 7. a 14. den po CCI znázorněné na ipsilaterální (IL) končetině, sham operované končetině a kontralaterální (CL) končetině se zobrazením standartní chyby průměru

5.2.4 Shrnutí

Zjistili jsme, že způsob měření evokované složky neuropatické bolesti u modelu CCI není uniformní. Ve studiích, které se zabývají měřením prahu bolesti, nejsou sjednoceny ani dny měření, ani intenzita stimulace, ani volba kontrolních hodnot. Změřené latence reflexní odpovědi v některých studiích dosahují až dvoj či trojnásobné hodnoty oproti jiným pracím. To poukazuje na další slabinu v měření prahu bolesti. Výsledné hodnoty se proto mezi různými studiemi nedají porovnávat.

Na základě analýzy studií v naší práci můžeme navrhnout následující postup sjednocující způsob evaluace evokované bolesti u modelu CCI:

1. Termální práh bolesti by se měl nejdříve změřit ještě před provedením operace a potom 7. a 14. den. Hodnoty prahu bolesti by měly být tedy

měřeny před i po operaci pro důkaz rozvoje neuropatické bolesti. Pro správnou interpretaci rozvoje neuropatické bolesti nejsou pro reflexní měření příliš vhodné první dny po chronické konstriktci sedacího nervu. Po operaci je nejvhodnější měřit sedmý den. Týden po operaci totiž dochází k největšímu poklesu latence únikové reakce díky rozvoji neuropatické bolesti. Po té je vhodné měřit čtrnáctý den, kdy se latence únikové reakce pohybují v přibližně stejných hodnotách jako sedmý den či se velmi mírně prodlužují.

2. Intenzita termálního paprsku při měření metodou podle Hargreaves by měla být nastavena tak, aby se latence únikové reakce pohybovaly před operací kolem deseti sekund. Jelikož různé intenzity mohou podávat různé odpovědi, je žádoucí, aby výzkumníci sjednotili používané intenzity stimulů. Pokud je intenzita stimulace tepelným paprskem příliš malá, nemusí tím být měřena hyperalgie, nýbrž alodynie, která nevypovídá o bolestivém podnětu. Nevhodné je ale i měření při zbytečně velké intenzitě stimulace. Pokud je intenzita příliš vysoká, latence únikové reakce se nemusí mezi tlapkami lišit a tudíž může zanikat rozdíl mezi kontrolní a podvázanou končetinou.
3. Jako kontrolní skupinu je nejvhodnější používat sham neboli falešně operované potkany a nesrovnávat pouze ipsilaterální s kontralaterální končetinou. Pokud se pro kontrolu používá kontralaterální končetina, může se zde projevit obranný míšní reflex a to zkřížený extenzorový. Je možné, že výsledný rozdíl v latencích na ipsilaterální a kontralaterální končetině je dán nejen poklesem latence na ipsilaterální, ale i vzestupem latence na kontralaterální končetině (i když tomu výsledky nenasvědčují, viz graf). Tonus extenzorových svalových skupin kontralaterální končetiny je zvýšen, tím se zamezí přenesení hmotnosti na zraněnou končetinu. Úniková reakce této končetiny proto může být zpomalena.
4. Do dalšího pokusu by měla být zařazena jen zvířata s poklesem prahu na podvázané končetině minimálně o 40 %.

6 Závěr

Nejvhodnějším a nejčastějším subjektem pro modulaci periferní neuropatické bolesti pomocí CCI je potkan. Testů založených na měření prahu bolesti existuje několik a stále se vyvíjejí nové. Přibližně polovina studií měří práh bolesti po operaci pomocí mechanických stimulů a druhá polovina využívá stimuly termické. Je však žádoucí věnovat velkou pozornost správnému výběru testu. Nejvhodnější pro reflexní měření termálního prahu bolesti je použití Hargreavesova testu. Většina (9/10) publikací v naší analýze zabývajících se měřením prahu bolesti po CCI využila tento test. Dále je při reflexním měření důležité věnovat pozornost použité kontrole. Nejčastější kontrolou se stávají falešně operovaná zvířata, která jsou vhodnou kontrolou oproti kontralaterální končetině. Tato práce poukazuje také na variabilitu v používaných intenzitách stimulů během testování prahových hodnot. Klidová latence únikové reakce před operací se optimálně pohybuje kolem 10 až 13,5 sekund. Vhodně nastavená intenzita stimulace by měla podávat latence v tomto rozmezí. Ale můžeme se setkat i se studiemi uvádějící trojnásobné hodnoty, tyto výsledky jsou ale neporovnatelné. Týden po CCI je průměrná hodnota latence $7,7 \pm 1,6$ sekund. Pro průkaz rozvoje neuropatické bolesti je žádoucí, aby hodnota prahu bolesti sedmý den po operaci klesla minimálně na 40 %. Dva týdny po operaci je průměrná hodnota prahu bolesti $8,3 \pm 1,4$ sekund. Tři týdny po operaci a déle je již ipsilaterální končetina pomalu uzdravována a prahy bolesti se postupně zvyšují.

Tento systematický přehled poskytl syntézu publikovaného výzkumu termálního prahu bolesti u animálního modelu s vyvolanou neuropatickou bolestí způsobenou konstrikcí sedacího nervu.

Seznam použité literatury

ALEY, KO, DB REICHLING a JD LEVINE. Vincristine hyperalgesia in the rat: A model of painful vincristine neuropathy in humans. *Neuroscience*. 1996, **73**(1), 259-265. DOI: 10.1016/0306-4522(96)00020-6. ISSN 03064522.

ALLEN, AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. *Journal of the American Medical Association*. 1911, **LVII**(11), 878-880. DOI: 10.1001/jama.1911.04260090100008. ISSN 0002-9955.

ÄNGEBY MÖLLER, K, BO JOHANSSON a OG BERGE. Assessing mechanical allodynia in the rat paw with a new electronic algometer. *Journal of Neuroscience Methods*. 1998, **84**(1-2), 41-47. DOI: 10.1016/S0165-0270(98)00083-1. ISSN 01650270.

BARROT, M. Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*. 2012, **211**, 39-50. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.12.041. ISSN 03064522.

BASS, WB a MJ VANDER BROOK. A Note on an Improved Method of Analgetic Evaluation. *Journal of the American Pharmaceutical Association* (Scientific ed.). 1952, **41**(10), 569-570. DOI: 10.1002/jps.3030411020. ISSN 00959553.

BASSO, DM, MS BEATTIE a JC BRESNAHAN. Graded Histological and Locomotor Outcomes after Spinal Cord Contusion Using the NYU Weight-Drop Device versus Transection. *Experimental Neurology*. 1996, **139**(2), 244-256. DOI: 10.1006/exnr.1996.0098. ISSN 00144886.

BENNETT, GJ a YK XIE. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*. 1988, **33**(1), 87-107. DOI: 10.1016/0304-3959(88)90209-6. ISSN 0304-3959.

BERGE, OG, I GARCIA CABRERA a K HOLE. Response latencies in the tail-flick test depend on tail skin temperature. *Neuroscience Letters*. 1988, **86**(3), 284-288. DOI: 10.1016/0304-3940(88)90497-1. ISSN 03043940.

CERVERO, F a J MA LAIRD. Visceral pain. *The Lancet*. 1999, **353**(9170), 2145-2148. DOI: 10.1016/S0140-6736(99)01306-9. ISSN 01406736

CERVERO, F. Visceral versus Somatic Pain: Similarities and Differences. *Digestive Diseases*. 2009, **27**(1), 3-10. DOI: 10.1159/000268115. ISSN 1421-9875

COURTEIX, C, A ESCHALIER a J LAVARENNE. Streptozocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain. *Pain*. 1993, **53**(1), 81-88. DOI: 10.1016/0304-3959(93)90059-X. ISSN 0304-3959.

D'AMOUR, FE a DL SMITH. A method for determining loss of pain sensation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1941, **72**(1), 74-79.

DAMASCENO, DC, AO NETTO, IL IESSI, FQ GALLEGGO, SB CORVINO, B DALLAQUA, YK SINZATO, A BUENO, IMP CALDERON a MVC RUDGE. Streptozotocin-Induced Diabetes Models: Pathophysiological Mechanisms and Fetal Outcomes. *BioMed Research International*. 2014, 2014. DOI: 10.1155/2014/819065. ISSN 2314-6133.

DELEO, JA., DW COOMBS, S WILLENBRING, RW COLBURN, C FROMM, R WAGNER a BB TWITCHCLL. Characterization of a neuropathic pain model: sciatic cryoneurolysis in the rat: sciatic cryoneurolysis in the rat. *Pain*. 1994, **56**(1), 131-134. DOI: 10.1016/0304-3959(94)90145-7. ISSN 0304-3959.

DEUIS, JR, LS DVORAKOVA a I VETTER. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2017, 10. DOI: 10.3389/fnmol.2017.00284. ISSN 1662-5099.

DREW, GM, PJ SIDDALL a AW DUGGAN. Responses of spinal neurones to cutaneous and dorsal root stimuli in rats with mechanical allodynia after contusive spinal cord injury. *Brain Research*. 2001, **893**(1-2), 59-69. DOI: 10.1016/S0006-8993(00)03288-1. ISSN 00068993.

GALBRAITH, JA, BJ MROSKO a RR MYERS. A system to measure thermal nociception. *Journal of Neuroscience Methods*. 1993, **49**(1-2), 63-68. DOI: 10.1016/0165-0270(93)90109-5. ISSN 01650270.

GAMBLE, GD a RJ MILNE. Repeated exposure to sham testing procedures reduces reflex withdrawal and hot-plate latencies: Attenuation of tonic descending inhibition?. *Neuroscience Letters*. 1989, **96**(3), 312-317. DOI: 10.1016/0304-3940(89)90397-2. ISSN 03043940.

GARCIA LARREA, L a M MAGNIN. Physiopathologie de la douleur neuropathique : revue des modèles expérimentaux et des mécanismes proposés. *La Presse Médicale*. 2008, **37**(2), 315-340. DOI: 10.1016/j.lpm.2007.07.025. ISSN 07554982.

GIGLIO, CA, HLA DEFINO, CA DA-SILVA, AS DE-SOUZA a EA DEL BEL. Behavioral and physiological methods for early quantitative assessment of spinal cord injury and prognosis

in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2006, **39**(12), 1613-1623. DOI: 10.1590/S0100-879X2006001200013. ISSN 0100-879X.

GRADL, G, P HERLYN, B FINKE, P GIERER, A WREE, M WITT, T MITTLMEIER a B VOLLMAR. A Pan-Caspase Inhibitor Reduces Myocyte Apoptosis and Neuropathic Pain in Rats with Chronic Constriction Injury of the Sciatic Nerve. *Anesthesia & Analgesia*. 2013, **116**(1), 216-223. DOI: 10.1213/ANE.0b013e31826e0fe0. ISSN 0003-2999.

HARGREAVES, K., R DUBNER, F BROWN, C FLORES a J JORIS. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*. 1988, **32**(1), 77-88. DOI: 10.1016/0304-3959(88)90026-7. ISSN 0304-3959.1016/0304-3940(88)90497-1. ISSN 03043940.

HUANG, PC, KL TSAI, YW CHEN, HT LIN a CHA HUNG. Exercise Combined With Ultrasound Attenuates Neuropathic Pain in Rats Associated With Downregulation of IL-6 and TNF- α , but With Upregulation of IL-10. *Anesthesia & Analgesia*. 2017, **124**(6), 2038-2044. DOI: 10.1213/ANE.0000000000001600. ISSN 0003-2999.

CHEN, YW, YT LI, YC CHEN, ZY LI a CH HUNG. Exercise Training Attenuates Neuropathic Pain and Cytokine Expression After Chronic Constriction Injury of Rat Sciatic Nerve. *Anesthesia & Analgesia*. 2012, **114**(6), 1330-1337. DOI: 10.1213/ANE.0b013e31824c4ed4. ISSN 0003-2999.

CHOI, Y, YW YOON, HS NA, SH KIM a JM CHUNG. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain*. 1994, **59**(3), 369-76.

CHRISTENSEN, MD, AW EVERHART, JT PICKELMAN a CE HULSEBOSCH. Mechanical and thermal allodynia in chronic central pain following spinal cord injury. *Pain*. 1996, **68**(1), 97-107. DOI: 10.1016/S0304-3959(96)03224-1. ISSN 0304-3959.

CHU, I, JA BODNAR, EL WHITE a RN BOWMAN. Quantification of vincristine and vinblastine in *Catharanthus roseus* plants by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 1996, **755**(2), 281-288. DOI: 10.1016/S0021-9673(96)00614-0. ISSN 00219673.

JAGGI, AS, V JAIN a N SINGH. Animal models of neuropathic pain. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 2011, **25**(1), 1-28. DOI: 10.1111/j.1472-8206.2009.00801.x. ISSN 07673981.

JASMIN, L, L KOHAN, M FRANSSSEN, G JANNI a JR GOFF. The cold plate as a test of nociceptive behaviors: description and application to the study of chronic neuropathic and

inflammatory pain models. *Pain*. 1998, **75**(2), 367-382. DOI: 10.1016/S0304-3959(98)00017-7. ISSN 0304-3959.

KALOUSOVÁ, J, B ROUSKOVÁ, D PACHMANNOVÁ a J STÝBLOVÁ. Bolest u dětí: hodnocení a některé způsoby léčby. *Pediatric pro praxi*. 2008, **9**(1), 7–11

KIM, J, YW YOON, SK HONG a HS NA. Cold and mechanical allodynia in both hind paws and tail following thoracic spinal cord hemisection in rats: timecourses and their correlates. *Neuroscience Letters*. 2003, **343**(3), 200-204. DOI: 10.1016/S0304-3940(03)00377-X. ISSN 03043940.

KIM, SH a JM CHUNG. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*. 1992, **50**(3), 355-363. DOI: 10.1016/0304-3959(92)90041-9. ISSN 0304-3959.

KIM, SH a JM CHUNG. Sympathectomy alleviates mechanical allodynia in an experimental animal model for neuropathy in the rat. *Neuroscience Letters*. 1991, **134**(1), 131-134. DOI: 10.1016/0304-3940(91)90524-W. ISSN 03043940.

KOZÁK, MJ. Jak zvládnout bolest. *Urologie pro praxi*, 2013, **14**(4), 178-182.

LE BARS, D, GOZARIU, M, a CADDEN, S. Animal models of nociception. *Pharmacological reviews*. 2001, **53**(4), pp. 597-652.

LI, G, H JIANG, C ZHENG, G ZHU, Y XU, X SHENG, B WU, J GUO, S ZHU, Y ZHAN, W LIN, R DING, C ZHANG, S LIU, L ZOU, Z YI a S LIANG. Long noncoding RNA MRAK009713 is a novel regulator of neuropathic pain in rats. *Pain*. 2017, **158**(10), 2042-2052. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001013. ISSN 0304-3959.

LUIS DELGADO, O, M BARROT, J RODEAU, G SCHOTT, M BENBOUZID, P POISBEAU, M FREUNDMERCIER a F LASBENNES. Calibrated Forceps: A Sensitive and Reliable Tool for Pain and Analgesia Studies. *The Journal of Pain*. 2006, **7**(1), 32-39. DOI: 10.1016/j.jpain.2005.07.011. ISSN 15265900.

MITCHELL, D a RF HELLON. Neuronal and behavioural responses in rats during noxious stimulation of the tail. *The Royal Society*. 1977, **197**(1127), 169-194. DOI: 10.1098/rspb.1977.0064. ISSN 20539193.

NESS, TJ, SL JONES a GF GEBHART. Contribution of the site of heating to variability in the latency of the rat tail flick reflex. *Brain Research*. 1987, **426**(1), 169-172. DOI: 10.1016/0006-8993(87)90437-9. ISSN 00068993.

ÖGREN, SO a OG BERGE. Test-dependent variations in the antinociceptive effect of p-chloroamphetamine-induced release of 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology*. 1984, **23**(8), 915-924. DOI: 10.1016/0028-3908(84)90005-4. ISSN 00283908.

OPAVSKÝ, J. Neuropatické bolesti - patofyziologické mechanismy a principy terapie. *Neurologie pro praxi*. 2006, (5), 270-274.

PAN, YD, QL GUO, E WANG, Z YE, ZH HE, WY ZOU, ZG CHENG a YJ WANG. Intrathecal Infusion of Pyrrolidine Dithiocarbamate for the Prevention and Reversal of Neuropathic Pain in Rats Using a Sciatic Chronic Constriction Injury Model. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*. 2010, **35**(3), 231-237. DOI: 10.1097/AAP.0b013e3181df245b. ISSN 1098-7339.

PATTE MENSAH, C, L MEYER, V SCHAEFFER a AG MENSAH NYAGAN. Selective regulation of 3 α -hydroxysteroid oxido-reductase expression in dorsal root ganglion neurons: A possible mechanism to cope with peripheral nerve injury-induced chronic pain. *Pain*. 2010, **150**(3), 522-534. DOI: 10.1016/j.pain.2010.06.004. ISSN 0304-3959.

PÁV, M. Komplexní účinek antidepresiv a bolest. *Solen*, 2009, **10**(3), 130-134

PIZZIKETTI, RJ, NS PRESSMAN, EB GELLER, A COWAN a MW ADLER. Rat cold water tail-flick: A novel analgesic test that distinguishes opioid agonists from mixed agonist-antagonists. *European Journal of Pharmacology*. 1985, **119**(1-2), 23-29. DOI: 10.1016/0014-2999(85)90317-6. ISSN 00142999.

POLOMANO, RC, AJ MANNES, US CLARK a GJ BENNETT. A painful peripheral neuropathy in the rat produced by the chemotherapeutic drug, paclitaxel. *Pain*. 2001, **94**(3), 293-304. DOI: 10.1016/S0304-3959(01)00363-3. ISSN 0304-3959.

RANDALL, LO a JJ SELITTO. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie*. 1957, **111**(4), 409-19.

SANDKÜHLER, J. Models and Mechanisms of Hyperalgesia and Allodynia. *Physiological Reviews*. 2009, **89**(2), 707-758. DOI: 10.1152/physrev.00025.2008. ISSN 0031-9333.

SCRIPTURE, CD, WD FIGG a A SPARREBOOM. Paclitaxel chemotherapy: from empiricism to a mechanism-based formulation strategy. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2005, **1**(2), 107-114.

SELTZER, Z, R DUBNER a Y SHIR. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain*. 1990, **43**(2), 205-218. DOI: 10.1016/0304-3959(90)91074-S. ISSN 0304-3959.

TANNER, KD, JD LEVINE a KS TOPP. Microtubule disorientation and axonal swelling in unmyelinated sensory axons during vincristine-induced painful neuropathy in rat. *Journal of comparative neurology*. 1998, **395**(4), 481-492.

TJØLSEN, A, JH ROSLAND, OG BERGE a K HOLE. The increasing-temperature hot-plate test: An improved test of nociception in mice and rats. *Journal of Pharmacological Methods*. 1991, **25**(3), 241-250. DOI: 10.1016/0160-5402(91)90014-V. ISSN 01605402.

UEDA, H. Molecular mechanisms of neuropathic pain—phenotypic switch and initiation mechanisms, *Pharmacology & Therapeutics*. 2005, **109**(1-2), 57-77. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2005.06.003. ISSN 01637258.

VANELDEREN, P, T ROUWETTE, T KOZICZ, R HEYLEN, JV ZUNDERT, EW ROUBOS a K VISSERS. Effects of Chronic Administration of Amitriptyline, Gabapentin and Minocycline on Spinal Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression and Neuropathic Pain Behavior in a Rat Chronic Constriction Injury Model. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*. 2013, **38**(2), 124-130. DOI: 10.1097/AAP.0b013e31827d611b. ISSN 1098-7339.

VOS, BP, AM STRASSMAN a RJ MACIEWICZ. Behavioral evidence of trigeminal neuropathic pain following chronic constriction injury to the rat's infraorbital nerve. *The Journal of Neuroscience*. 1994, **14**(5), 2708-2723. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.14-05-02708.1994. ISSN 0270-6474.

WALL, PD, M DEVOR, R INBAL, JW SCADDING, D SCHONFELD, Z SELTZER a MM TOMKIEWICZ. Autotomy following peripheral nerve lesions: experimental anesthesia dolorosa. *Pain*. 1979, **7**(2), 103-113. DOI: 10.1016/0304-3959(79)90002-2. ISSN 0304-3959.

WOOLFE, G a D MACDONALD. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (demerol). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1944, **80**(3), 300-307.

XIA, T, Y CUI, Y QIAN, S CHU, J SONG, X GU a Z MA. Regulation of the NR2B-CREB-CRTC1 Signaling Pathway Contributes to Circadian Pain in Murine Model of Chronic Constriction Injury, *Anesthesia & Analgesia*. 2016, **122**(2), 542-552. DOI: 10.1213/ANE.0000000000000991. ISSN 0003-2999.

XU, J, XM CHEN, BJ ZHENG a XR WANG. Electroacupuncture Relieves Nerve Injury–Induced Pain Hypersensitivity via the Inhibition of Spinal P2X7 Receptor–Positive Microglia. *Anesthesia & Analgesia*. 2016, **122**(3), 882-892. DOI: 10.1213/ANE.0000000000001097. ISSN 0003-2999.

XU, XJ, JX HAO, H ALDSKOGIUS, Å SEIGER a Z WIESENFELD-HALLIN. Chronicpain-related syndrome in rats after ischemic spinal cord lesion: a possible animal model for pain in patients with spinal cord injury. *Pain*. 1992, **48**(2), 279-290. DOI: 10.1016/0304-3959(92)90070-R. ISSN 0304-3959.

YALCIN, I, A CHARLET, MJ FREUND-MERCIER, M BARROT a P POISBEAU. Differentiating Thermal Allodynia and Hyperalgesia Using Dynamic Hot and Cold Plate in Rodents. *The Journal of Pain*. 2009, **10**(7), 767-773. DOI: 10.1016/j.jpain.2009.01.325. ISSN 15265900.

YEOMANS, DC a HK PROUDFIT. Characterization of the foot withdrawal response to noxious radiant heat in the rat. *Pain*. 1994, **59**(1), 85-94. DOI: 10.1016/0304-3959(94)90051-5. ISSN 0304-3959.

YEZIERSKI, PR, S LIU, LG RUENES, JK KAJANDER a LK BREWER. Excitotoxic spinal cord injury: behavioral and morphological characteristics of a central pain model. *Pain*. 1998, **75**(1), 141-155. DOI: 10.1016/S0304-3959(97)00216-9. ISSN 0304-3959

YIN, Q, FF LU, Y ZHAO, MY CHENG, Q FAN, J CUI, L LIU, W CHENG a CD YAN. Resveratrol Facilitates Pain Attenuation in a Rat Model of Neuropathic Pain Through the Activation of Spinal Sirt1. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*. 2013, **38**(2), 93-99. DOI: 10.1097/AAP.0b013e3182795b23. ISSN 1098-7339.

Knižní zdroje

AMBLER, Z. Neuropatická bolest. *Bolest: monografie algeziologie*. 2. vyd. Praha: Tigis, 2012, s. 233. ISBN 978-80-87323-02-1

FRANĚK, M a Š VACULÍN. Animální modely bolesti. *Bolest: monografie algeziologie*. 2. vyd. Praha: Tigis, 2012, s. 94. ISBN 978-80-87323-02-1

NERADÍLEK, F. Bolest jako syndrom. *Bolest: monografie algeziologie*. 2. vyd. Praha: Tigis, 2012, s. 27. ISBN 978-80-87323-02-1

ŠEVČÍK, P, R ČUMLIVSKI a J MÁLEK. Akutní bolest. *Bolest: monografie algeziologie*. 2. vyd. Praha: Tigis, 2012, s. 202. ISBN 978-80-87323-02-1

Web

IASP Terminology. *The International Association for the Study of Pain* [online]. Seattle, 1994, aktualizováno 14. 12. 2017 [cit. 2018-12-26]. Dostupné z: <https://www.iasp-pain.org/terminology?navItemNumber=576>